

Pengembangan *Time-Temperature Indicator* Berbasis Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.) sebagai Sensor Penurunan Kualitas Susu Sapi Akibat Kesalahan Suhu Penyimpanan
(*Development of Time-Temperature Indicator Based on Mangosteen Rind (Garcinia mangostana L.) as Sensor Cow's Milk Quality Degradation Due to Wrong Storage Temperature*)

Yayan Ika Rachmawati, Bambang Kuswandi, Nia Kristiningrum
Fakultas Farmasi, Universitas Jember
Jln. Kalimantan 37, Jember 68121
e-mail korespondensi: yayanika0@gmail.com

Abstract

Anthocyanin is reddish purple pigment found abundantly in fruits, vegetables, and flowers. Time-temperature indicator (TTI) based on anthocyanin extracted from mangosteen rind was developed for monitoring quality of cow's milk, especially fresh milk stored at room temperature. TTI consists of two membranes, namely indicator membranes and acetic acid membranes. Extract of mangosteen rind and sodium hydroxide solution was also co-immobilized onto Whatman filter paper to make indicator membrane, while acetic acid solution was also separately immobilized onto filter paper obtain acetic acid membrane. Color changes as TTI's responses were monitored directly using both visual inspection and quantitative measurement via color image analysis using ImageJ software. The color changes were further correlated with cow's milk freshness parameters such as pH, smell, and number of microbial. Fresh cow's milk quality spoiled after 4 hours stored at room temperature and color changes of TTI to bright yellow occurred after 4 hours of exposure at room temperature. The result shown that the TTI can be applied for monitoring quality of cow's milk stored in room temperature.

Keywords: mangosteen rind, TTI, cow's milk quality

Abstrak

Antosianin adalah pigment atau warna yang ditemukan pada sebagian besar buah, sayuran, dan bunga. *Time-temperature indicator* (TTI) berbasis antosianin dari ekstrak kulit manggis dikembangkan untuk memonitor kualitas susu sapi, terutama susu segar yang disimpan pada suhu ruang. TTI terdiri dari dua membran, yaitu membran indikator dan membran asam asetat. Ekstrak kulit manggis dan larutan natrium hidroksida diimobilisasi pada kertas saring *whatman* membentuk membran indikator, sedangkan larutan asam asetat diimobilisasi pada kertas saring membentuk membran asam asetat. Respon TTI yang berupa perubahan warna diamati secara langsung menggunakan inspeksi visual dan pengukuran kuantitatif melalui analisis warna menggunakan *ImageJ*. Perubahan warna selanjutnya dikorelasikan dengan parameter kualitas susu meliputi pH, bau, dan total mikroba terhitung. Kualitas susu sapi segar menurun setelah 4 jam disimpan pada suhu ruang dan perubahan warna TTI menjadi kuning terang terjadi setelah 4 jam terpapar suhu ruang. Hasilnya menunjukkan bahwa TTI dapat diaplikasikan untuk memonitor kualitas susu sapi pada suhu ruang.

Kata kunci: kulit manggis, TTI, kualitas susu sapi

Pendahuluan

Susu merupakan bahan pangan yang tersusun oleh zat makanan dengan proporsi seimbang yang dibutuhkan oleh manusia, mudah dicerna, dan diserap oleh tubuh [1]. Kualitas susu sangat sulit dipertahankan hingga ke tangan konsumen, susu termasuk dalam daftar bahan makanan yang tidak tahan lama (*perishable food*) karena kondisi gizi yang baik pada susu juga memberi peluang yang baik pula bagi pertumbuhan mikroba seperti bakteri, khamir, dan kapang dimana pertumbuhannya membutuhkan bahan makanan [2]. Pertumbuhan berbagai mikroba tersebut akan mengubah mutu susu, ditandai dengan perubahan rasa, aroma, dan penampakan yang akhirnya menyebabkan susu tersebut rusak [3]. Salah satu faktor penyebab kontaminasi mikroba pada susu ialah penyimpanan susu pada kondisi yang kurang tepat, yakni ruangan kotor, temperatur, dan kelembaban yang kurang tepat untuk menyimpan susu [4].

Berdasarkan masalah tersebut, dibutuhkan suatu alat yang dapat mendeteksi penurunan kualitas susu selama pengiriman, penyimpanan hingga sampai ke konsumen. Salah satu alat yang saat ini banyak dikembangkan adalah *Time-temperature indicator* (TTI) yang merupakan suatu alat kecil yang dapat menunjukkan perubahan antara waktu dan temperatur, didesain sebagai label serta memiliki perubahan pada sifat fisik TTI, umumnya berupa visual dengan adanya perubahan warna [5]. Semakin cepat perubahan warna terjadi, semakin cepat pula indikator akan mendeteksi akhir dari *shelf life* pada produk [6].

Pada penelitian ini akan dikembangkan TTI sebagai sensor penurunan kualitas susu sapi akibat kesalahan suhu penyimpanan. Komponen utama TTI adalah membran asam asetat yaitu kertas saring yang telah diimobilisasi asam asetat dan membran indikator yang mengandung ekstrak kulit manggis dan NaOH yang diimobilisasi pada kertas saring *whatman*. Selanjutnya membran tersebut dititrasi dengan uap asam asetat yang telah diimobilisasi pada membran asam asetat. Seiring berjalannya waktu, uap asam asetat akan mentitrasi membran indikator sehingga terjadi perubahan warna pada membran indikator. Membran TTI yang semula berwarna cokelat pada suasana basa kemudian akan berubah menjadi kuning terang dalam suasana asam. Pada saat produk susu sudah tidak segar lagi, diharapkan membran akan berubah warna

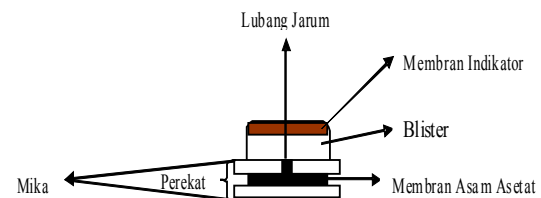
menjadi kuning terang. Ketika warna membran telah berubah menjadi kuning terang, maka susu sapi tersebut telah tidak segar atau tidak layak dikonsumsi.

Metode Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratoris sejak bulan Januari hingga Mei 2016. Alat-alat yang digunakan meliputi *ball pipet*, *beaker glass*, batang pengaduk, labu ukur, pipet tetes, pipet volume, tabung reaksi, pH meter, erlenmeyer, *blender*, timbangan analitik, *incubator*, *petry disk*, gelas ukur, mikropipet, plat tetes, *yellow tip*, *blue tip*, *refrigerator*, *Laminar Air Flow* (LAF), autoklaf, gunting, termometer, pinset, jarum, dan *scanner* Canon LiDE 110. Bahan yang digunakan meliputi susu sapi Rembangan, kertas saring, kertas saring *whatman* No. 1001 150, etanol 96%, aquadestilata, asam asetat 10%, plastik mika, blister, jarum, isolasi, NaOH, ekstrak kulit manggis sebagai indikator pH, dan media agar (*PCA Plate Count Agar*).

Desain dan Fabrikasi TTI

Desain TTI berbentuk bulat sesuai dengan bentuk blister yang digunakan. Fabrikasi TTI dimulai dengan meletakkan membran indikator dalam blister kemudian meletakkan mika yang terdapat lubang berukuran $\pm 1\text{mm}$ di bagian tengahnya, hal ini dilakukan untuk memperlambat masuknya uap asam asetat dari membran asam asetat ke dalam membran indikator. Membran asam asetat yang telah dibuat diletakkan di bawah mika berlubang dan ditutup dengan mika yang tidak berlubang. Tepi-tepi TTI diisolasi untuk mencegah keluarnya uap asam asetat. Desain TTI ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Desain TTI tampak samping dengan membran indikator yang berada dalam blister dan membran asam asetat diantara mika yang berhadapan dengan membran indikator.

Pengukuran Parameter Kualitas Susu

Pengukuran parameter kualitas susu yang dilakukan berdasarkan perubahan sifat fisik, kimia, dan biologis susu yaitu pengukuran pH

susu menggunakan pH meter, pengujian bau dinilai oleh 10 orang panelis, dan uji total mikroba menggunakan metode *Total Plate Count* dengan media agar PCA.

Pembuatan Ekstrak dan Penentuan Total Antosianin

Sebanyak 0,5 gram simplisia kulit manggis direndam dalam 10 ml etanol 96%, dimaserasi selama 120 menit kemudian disaring dan didapatkan ekstrak kulit manggis dengan konsentrasi 5% b/v. Pengukuran konsentrasi antosianin sebagai pewarna alami dalam ekstran kulit manggis dilakukan dengan menggunakan *pH differential*. Sebanyak 2 tabung reaksi disiapkan, tabung reaksi pertama dimasukkan larutan dapar kalium klorida pH 1 sebanyak 0,1 ml dan tabung reaksi kedua dimasukkan larutan dapar natrium asetat pH 4,5 sebanyak 0,1 ml. Masing-masing tabung reaksi tersebut ditambahkan sampel pewarna sebanyak 3 ml dan didiamkan selama \pm 20 menit. Pengukuran absorbansi dari kedua perlakuan pH diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm dan 700 nm. Nilai absorbansi dihitung dengan persamaan:

$$A = [(A_{520}-A_{700})_{pH\ 1} - (A_{520}-A_{700})_{pH\ 4,5}]$$

$$\text{Konsentrasi antosianin (mg/L)} = \frac{(A \times MW \times DF \times 1000)}{(\xi \times 1)}$$

Ket. :A = absorbansi
BM = berat molekul (449,2 g/mol)
FP = faktor pengenceran
 ξ = ekstingsi molar (26.900 Lxmol⁻¹xcm⁻¹)

Pembuatan Membran Indikator

Kertas saring *whatman* yang telah dipotong dengan diameter 1,5 cm direndam dalam campuran ekstrak kulit manggis konsentrasi 5% b/v dan 10% b/v serta larutan NaOH 0,05 N dan 0,1 N dengan perbandingan 3:1, 4:1, dan 5:1 selama \pm 1 jam, kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan \pm 5 menit. Membran indikator yang telah kering dimasukkan dalam blister.

Pembuatan Membran Asam Asetat

Kertas saring yang telah dipotong dengan diameter \pm 1,8 cm dibasahi dengan asam asetat sebanyak 35 μ l. Pembasahan dilakukan dengan meneteskan asam asetat menggunakan mikropipet secara terpusat kemudian

dikeringkan selama 40, 50, dan 60 menit dalam lemari asam.

Karakterisasi TTI

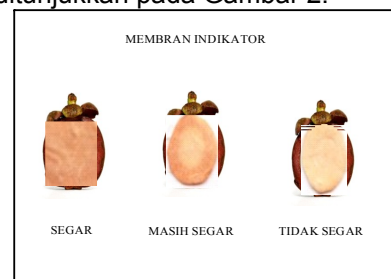
Karakterisasi TTI dilakukan untuk mengetahui perubahan warna TTI setiap jam selama 8 jam, stabilitas TTI setelah disimpan pada suhu *chiller* setiap 2 hari selama 6 hari serta mengetahui waktu pakai TTI yaitu waktu TTI masih memberikan respon perubahan warna setiap jam selama 8 jam setelah dilakukan stabilitas TTI.

Aplikasi TTI pada Susu Sapi di Pasaran

Aplikasi TTI pada susu sapi di pasaran adalah dengan mengukur penurunan nilai kualitas sampel yaitu "Susu Segar Rembangan" dengan perubahan warna yang diberikan TTI dan cara penggunaan TTI pada kemasan susu.

Hasil Penelitian

Desain dan fabrikasi TTI berbasis ekstrak kulit manggis adalah warna cokelat menandakan susu segar, warna cokelat sebagian menandakan susu masih segar dan warna kuning terang menandakan susu tidak segar ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Desain warna TTI, warna cokelat menandakan susu segar, warna cokelat sebagian menandakan susu masih segar dan warna kuning terang menandakan susu tidak segar

Hasil penentuan kadar ekstrak kulit manggis konsentrasi 5% b/v dengan menggunakan metode *pH differential* adalah 11, 672 \pm 0,132 mg/L.

Konsentrasi ekstrak kulit manggis dan NaOH yang digunakan untuk larutan indikator masing-masing sebesar 5% b/v dan 0,1 N. Dipilih konsentrasi tersebut karena menghasilkan perbedaan warna yang paling jelas dari perubahan warna cokelat menjadi kuning terang setelah 5 jam fabrikasi pada suhu ruang sehingga mudah dibedakan secara visual.

Perbandingan volume ekstrak kulit manggis dan NaOH yang digunakan adalah 3:1

karena menghasilkan lama perubahan warna TTI dari coklat menjadi kuning terang sesuai dengan penurunan kualitas susu yang rusak, yaitu setelah jam ke-4 penyimpanan suhu ruang, sedangkan pada perbandingan 5:1 dan 6:1 warna coklat yang dihasilkan kurang pekat dan perubahan warnanya tidak sesuai dengan penurunan kualitas susu (setelah 4 jam disimpan pada suhu ruang) namun lebih cepat. Pada perubahan warna membran TTI perbandingan 3:1, warna kuning terang menandakan susu sudah tidak segar dan tidak layak untuk dikonsumsi.

Lama pengeringan membran asam asetat yaitu selama 60 menit pada lemari asam karena mampu mengubah warna membran indikator dari coklat menjadi kuning terang sesuai lama kerusakan susu di suhu ruang yaitu setelah 4 jam seperti yang terlihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Optimasi perubahan warna TTI yang dititiasi dengan membran asam asetat dengan variasi lama pengeringan membran

Perubahan warna TTI jam ke-	Lama pengeringan membran asam asetat		
	40 menit	50 menit	60 menit
0			
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			

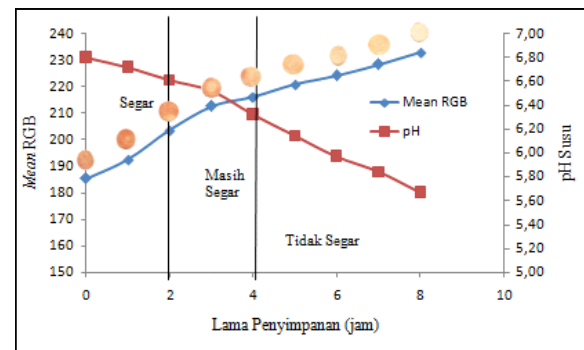
Keterangan: data disajikan untuk mengetahui lama waktu pengeringan membran asam asetat yang memberikan perubahan warna setiap jam selama 8 jam sesuai penurunan kualitas susu.

Perubahan warna TTI ini dikorelasikan dengan hasil uji kualitas susu sapi meliputi uji pH, uji bau, dan uji total mikroba pada penyimpanan suhu ruang. Dari hasil pengujian uji pH terjadi penurunan nilai pH setelah 4 jam terpapar suhu ruang (Gambar 3). Hasil uji bau susu menunjukkan terjadinya kenaikan nilai ketidaksukaan panelis terhadap bau susu setiap jamnya selama 8 jam (Gambar 4). Pada pengujian total mikroba (Gambar 5) diketahui bahwa setelah jam ke-4 penyimpanan suhu ruang, susu sapi sudah tidak layak untuk

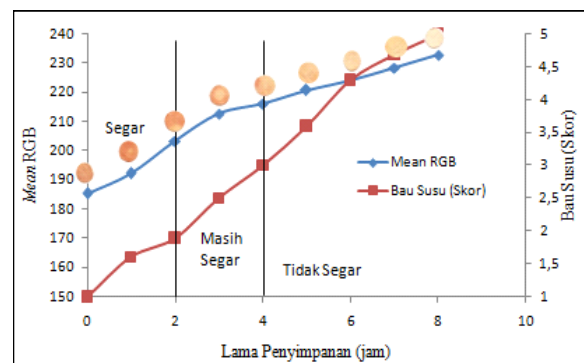
dikonsumsi dengan nilai total mikroba pada jam ke-5 sebesar $2,16 \times 10^6$ CFU/ml.

TTI berbasis ekstrak kulit manggis memiliki stabilitas dan waktu pakai pada penyimpanan suhu *chiller* selama 4 hari. Pada hari ke 6 nilai *mean* RGB dari membran semakin meningkat yang ditandai dengan penurunan intensitas warna coklat pada membran sehingga membran indikator sudah tidak memberikan respon yang baik.

TTI berbasis ekstrak kulit manggis dapat diaplikasikan pada susu sapi yang ada di pasaran. Perubahan warna yang diberikan oleh TTI sesuai dengan perubahan kualitas sampel yang digunakan yaitu "Susu Segar Rembangan". Aplikasi TTI pada kemasan susu dilakukan dengan cara menempelkan TTI pada kemasan bagian luar kemasan susu saat susu mulai didisimpan pada suhu ruang.



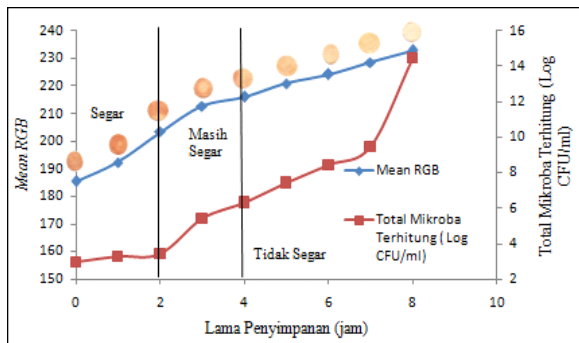
Gambar 3. Korelasi perubahan warna TTI dan pH susu setiap jam selama 8 jam



Gambar 4. Korelasi perubahan warna TTI dan skor bau susu oleh panelis setiap jam selama 8 jam

Pembahasan

Pada penelitian ini dikembangkan TTI berbasis ekstrak kulit manggis sebagai sensor penurunan kualitas susu akibat kesalahan suhu penyimpanan.



Gambar 5. Korelasi perubahan warna TTI dan total mikroba terhitung dalam susu setiap jam selama 8 jam

Bahan yang dipilih untuk menunjang kerja TTI yaitu asam asetat karena memiliki sifat fisik yang berbeda pada suhu *chiller* ($4 \pm 1^\circ\text{C}$) dan suhu ruang. Asam asetat merupakan bahan yang mudah menguap pada suhu ruang dan sedikit menguap pada suhu dingin [7]. Pemilihan ekstrak kulit manggis sebagai indikator pH karena kandungan pada ekstrak kulit manggis yaitu antosianin memiliki stabilitas perubahan warna sesuai pH lingkungan. Pada suasana basa ekstrak kulit manggis berwarna coklat dan pada suasana asam ekstrak kulit manggis berwarna kuning terang [8].

Prinsip TTI ialah titrasi asam basa dimana terjadi reaksi antara basa kuat dan asam lemah yaitu NaOH dan asam asetat dengan ekstrak kulit manggis sebagai indikator pH-nya. Asam asetat akan mentitrasi NaOH, apabila NaOH telah habis bereaksi maka terjadi perubahan pH lingkungan dari basa menjadi asam akibatnya kelebihan asam asetat akan bereaksi dengan antosianin dari ekstrak kulit manggis sehingga antosianin akan memberikan perubahan warna dari coklat menjadi kuning terang. Perubahan warna yang terjadi menandakan bahwa reaksi telah mencapai *endpoint*. Lama waktu titrasi untuk mencapai *endpoint* dikorelasikan dengan penurunan kualitas susu, apabila susu mengalami penurunan kualitas maka reaksi titrasi juga mencapai fase *endpoint* sehingga akan memberikan perubahan warna. Perubahan warna yang terjadi ini digunakan sebagai penanda penurunan kualitas susu akibat kesalahan suhu penyimpanan. TTI berwarna coklat menandakan susu dalam keadaan segar, berwarna coklat sebagian saat susu dalam keadaan masih segar, berwarna kuning terang menandakan susu sudah tidak segar, dan tidak layak untuk dikonsumsi.

Penentuan kesegaran susu didasarkan pada pengamatan terhadap nilai pH, bau, dan

total mikroba terhitung pada susu. Dari semua uji kualitas susu yang telah dilakukan pada suhu ruang, diperoleh hasil bahwa susu berada pada kondisi segar saat 2 jam pertama, berada pada kondisi masih segar selama 2-4 jam, dan berada pada kondisi tidak segar setelah terpapar suhu ruang lebih dari 4 jam. TTI dirancang sederhana dan mudah dalam penggunaannya yaitu hanya dengan menempelkan TTI pada bagian luar kemasan susu. TTI akan memberikan tanda melalui perubahan warna apabila terjadi penurunan kualitas susu. TTI berwarna coklat menandakan susu dalam keadaan segar, berwarna coklat sebagian saat susu dalam keadaan masih segar, berwarna kuning terang menandakan susu sudah tidak segar, dan tidak layak untuk dikonsumsi.

Simpulan dan Saran

TTI berbasis ekstrak kulit manggis dapat digunakan sebagai sensor penurunan kualitas susu akibat kesalahan suhu penyimpanan dengan cara menempelkan TTI pada bagian luar kemasan susu. Korelasi antara penurunan kualitas susu akibat kesalahan suhu penyimpanan berbanding lurus dengan perubahan warna TTI. Semakin lama susu disimpan pada suhu ruang, maka kualitas susu akan semakin buruk dan TTI akan memberikan tanda melalui perubahan warna dari coklat menjadi kuning terang.

Penelitian selanjutnya diharapkan dapat menghasilkan TTI dengan stabilitas dan waktu pakai yang lebih lama serta stabilitas yang baik pada suhu dingin ($4 \pm 1^\circ\text{C}$), suhu sejuk ($6 - 23^\circ\text{C}$), maupun suhu ruang ($25 \pm 2^\circ\text{C}$).

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada *Chemo & Biosensors Group* Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberikan bantuan dan fasilitas dalam penyelesaian penelitian ini.

Daftar Pustaka

- [1] Adnan, M. Kimia dan teknologi pengolahan air susu. Yogyakarta: Andi Offset; 1984.
- [2] Saleh, E. Dasar pengolahan susu dan hasil ikutan ternak. Medan: USU Digital Library; 2004a.
- [3] Abubakar, Triyantini, Sunarlim, R, Setiyanto, H, Nurjanah. Pengaruh suhu dan waktu pasteurisasi terhadap mutu susu

- selama penyimpanan. JITV. 2000; 6(1): 45-50.
- [4] Buckle, KA, Edwards, RA, Fleet, GH, Wooton, M. Ilmu pangan. Jakarta: UI Press; 1987.
- [5] Haarer, D, Gueta-neyroud, T, Salman, H. Time temperature indicator. USA: United States Patent Application; 2011.
- [6] Prusik, T, Arnold, RM, Harissonville, NJ. Multifunctional time-temperature indicator. USA: United States Patent; 1991.
- [7] Pratiwi, K. Pra-rancangan pabrik amil asetat dari amil alkohol dan asam asetat kapasitas 40.150 ton per tahun. Tidak diterbitkan. Skripsi. Surakarta: Universitas Muhammadiyah; 2010.
- [8] Asokawaty, RV. Isolasi antosianin dari kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan aplikasinya sebagai chemosensor. Tidak diterbitkan. Skripsi. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada; 2015.